

U. PORTO

FMUP FACULDADE DE MEDICINA
UNIVERSIDADE DO PORTO

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA

2016/2017

Maria Beatriz Nunes Sampaio

Aplicação da membrana amniótica em Oftalmologia

The use of amniotic membrane in Ophthalmology

março, 2017

FMUP

Maria Beatriz Nunes Sampaio
Aplicação da membrana amniótica em Oftalmologia
The use of amniotic membrane in Ophthalmology

Mestrado Integrado em Medicina

Área: Oftalmologia
Tipologia: Dissertação

Trabalho efetuado sob a Orientação de:
Dr. Luís Torrão

Trabalho organizado de acordo com as normas da revista:
Sociedade Portuguesa de Oftalmologia (SPO)

março, 2017

FMUP

Eu, Maria Beatriz Nunes Sampaio, abaixo assinado, nº
mecanográfico 201107430, estudante do 6º ano do Ciclo de Estudos Integrado em Medicina,
na Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, declaro ter atuado com absoluta integridade na
elaboração deste projeto de opção.

Neste sentido, confirmo que **NÃO** incorri em plágio (ato pelo qual um indivíduo, mesmo por omissão,
assume a autoria de um determinado trabalho intelectual, ou partes dele). Mais declaro que todas as
frases que retirei de trabalhos anteriores pertencentes a outros autores, foram referenciadas, ou
redigidas com novas palavras, tendo colocado, neste caso, a citação da fonte bibliográfica.

Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, 20 /03 / 2017

Assinatura conforme cartão de identificação:

Maria Beatriz Nunes Sampaio

Projecto de Opção do 6º ano – DECLARAÇÃO DE REPRODUÇÃO

NOME

Maria Beatriz Nunes Sampaio

NÚMERO DE ESTUDANTE

201107430

E-MAIL

beansampaio@gmail.com

DESIGNAÇÃO DA ÁREA DO PROJECTO

Oftalmologia

TÍTULO DISSERTAÇÃO/MONOGRAFIA (riscar o que não interessa)

Aplicação da membrana amniótica em Oftalmologia

ORIENTADOR

Dr. Luís Torrão

COORDENADOR (se aplicável)

ASSINALE APENAS UMA DAS OPÇÕES:

É AUTORIZADA A REPRODUÇÃO INTEGRAL DESTES TRABALHOS APENAS PARA EFEITOS DE INVESTIGAÇÃO, MEDIANTE DECLARAÇÃO ESCRITA DO INTERESSADO, QUE A TAL SE COMPROMETE.	<input checked="" type="checkbox"/>
É AUTORIZADA A REPRODUÇÃO PARCIAL DESTES TRABALHOS (INDICAR, CASO TAL SEJA NECESSÁRIO, Nº MÁXIMO DE PÁGINAS, ILUSTRAÇÕES, GRÁFICOS, ETC.) APENAS PARA EFEITOS DE INVESTIGAÇÃO, MEDIANTE DECLARAÇÃO ESCRITA DO INTERESSADO, QUE A TAL SE COMPROMETE.	<input type="checkbox"/>
DE ACORDO COM A LEGISLAÇÃO EM VIGOR, (INDICAR, CASO TAL SEJA NECESSÁRIO, Nº MÁXIMO DE PÁGINAS, ILUSTRAÇÕES, GRÁFICOS, ETC.) NÃO É PERMITIDA A REPRODUÇÃO DE QUALQUER PARTE DESTES TRABALHOS.	<input type="checkbox"/>

Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, 20 / 03 / 2017

Assinatura conforme cartão de identificação:

Maria Beatriz Nunes Sampaio

Aplicação da membrana amniótica em Oftalmologia

Maria Beatriz Nunes Sampaio¹, Luís Torrão²

¹ Estudante a frequentar o Mestrado Integrado em Medicina na Faculdade de Medicina da Universidade do Porto. Alameda Professor Hernâni Monteiro, 4200-319 Porto, Portugal

² Assistente Hospitalar Graduado no Serviço de Oftalmologia do Centro Hospitalar de São João, E.P.E. Alameda Professor Hernâni Monteiro, 4200-319 Porto, Portugal

Autor correspondente:

Maria Beatriz Nunes Sampaio

Faculdade de Medicina da Universidade do Porto. Alameda Professor Hernâni Monteiro, 4200-319 Porto, Portugal

Endereço eletrónico: mimed11246@med.up.pt

[Tel. +351969801716](tel:+351969801716)

Os autores relatam não existir conflito de interesses.

Certificamos que o trabalho não foi publicado previamente.

Cedemos os direitos de autor à Sociedade Portuguesa de Oftalmologia (SPO).

RESUMO

Objetivo: Avaliar a eficácia clínica da membrana amniótica na reconstrução da superfície ocular.

Métodos: Foi realizada uma revisão da literatura alusiva ao tema, com recurso à base de dados de artigos científicos PubMed®, publicados até 2016. Foram utilizadas palavras-chave como, *amniotic membrane, transplantation, ocular surface reconstruction, properties* e *indications*. Num estudo retrospectivo, foram analisados 13 olhos de 12 pacientes, submetidos a transplante de membrana amniótica no Hospital de São João, de 2014 a 2016, com várias patologias da superfície ocular (úlceras neurotróficas, perfurações da córnea e queratopatia em banda). Foi utilizada membrana amniótica criopreservada através do uso de diferentes técnicas cirúrgicas: *overlay* ou associação de *inlay* e *overlay*.

Resultados: Foram obtidos bons resultados em todos os pacientes, observando-se rápida epitelização da córnea em 11 dos 12 pacientes (3 a 4 semanas) através da utilização de múltiplas camadas de membrana amniótica. Em 2 pacientes o transplante foi usado, com sucesso, apenas como medida temporária até futura cirurgia de transplante da córnea ser efetuada. Foi observado significativo alívio da dor nos pacientes diagnosticados com queratopatia em banda. Apenas 2 casos se revelaram insatisfatórios após transplante com membrana amniótica, sendo necessária, segunda intervenção cirúrgica. Dos 12 pacientes, apenas 2 foram administrados com terapêutica tópica pós-operatória para prevenir a inflamação. Não se registaram complicações pós-operatórias ou rejeição do enxerto.

Conclusão: A membrana amniótica pode ser considerada uma boa alternativa para a reconstrução da superfície ocular por promover a epitelização, reduzir a dor e suprimir a inflamação da superfície ocular.

Palavras-chave: Membrana amniótica, transplante, reconstrução da superfície ocular, propriedades, indicações.

ABSTRACT

Aim: To evaluate the efficiency of the clinical use of the amniotic membrane in the ocular surface reconstruction.

Methods: A review of literature about the theme was searched in the PubMed® database for scientific articles published until 2016, with the key-words “amniotic membrane”, “transplantation”, “ocular surface reconstruction”, “properties” and “indications”. In a retrospective study were included 12 patients (13 eyes), who underwent amniotic membrane transplantation at “Hospital de S. João” from 2014 to 2016, with several ocular surface pathologies (neurotrophic ulcers, corneal perforations and band keratopathy). Cryopreserved amniotic membrane was used with different surgical techniques: *overlay* and association of *inlay* and *overlay* techniques.

Results: All cases reported successful outcomes. 11 out of 12 patients showed fast corneal epithelialisation after 3/4 weeks through a multilayered application of amniotic membrane. Success was also evident in 2 cases, where amniotic membrane transplantation was used as a temporary measure until a more definitive surgical procedure was performed (corneal transplantation). Amniotic membrane also proved to reduce pain in patients diagnosed with band keratopathy. Only 2 cases were reported to achieve partial success after amniotic membrane transplantation, and a further surgery was required until complete epithelialisation was noted. 2 out of 12 patients underwent postoperative topical therapy to suppress ocular surface inflammation. No patient developed major immediate postoperative complications or graft rejection.

Conclusion: The amniotic membrane may be considered a good alternative for ocular surface reconstruction, as it promotes epithelialisation, reduces pain and minimizes inflammation of the ocular surface.

Key-words: Amniotic membrane, transplantation, ocular surface reconstruction, properties, indications.

INTRODUÇÃO

A superfície ocular é uma estrutura extremamente sensível e dinâmica, sendo inúmeros os processos celulares que mantêm a sua integridade ^[13]. A rutura desse equilíbrio, pelo aumento dos fatores angiogénicos e diminuição dos fatores anti-angiogénicos, conduz inexoravelmente à invasão da córnea por estruturas vasculares sanguíneas e linfáticas, naquilo que se denomina neovascularização.

Qualquer agressão (química ou mecânica), contínua e repetida induz processos de fibrose, aumento da permeabilidade vascular, exsudação, depósitos de lipídeos, entre outros, provocando uma disfunção anatómica e fisiológica do olho como um todo.

Vários tecidos biológicos têm sido utilizados como tecidos dadores para reparar ou diminuir a inflamação nos casos em que a córnea ou a conjuntiva ficam seriamente afetados. Entre outros, incluem-se as mucosas orais, labiais e vaginais ^[7,13]. A membrana amniótica (MA) humana é utilizada em cirurgia desde o início do século XX, embora o seu uso em oftalmologia seja relativamente recente. Apesar de existir pouca literatura relativa ao seu uso em cirurgia oftalmológica, os resultados relatados demonstram que a MA pode ser uma poderosa ferramenta para a reparação, proteção e reconstrução da superfície ocular, devido não só à sua estrutura transparente, como também às suas propriedades anti-inflamatórias, anti-fibróticas, anti-angiogénicas e antimicrobianas. Além disso, a sua capacidade de fornecer um substrato para o crescimento, migração e adesão de células epiteliais da córnea e da conjuntiva, torna-a um material por excelência para a reconstrução da superfície ocular ^[13].

O transplante de membrana amniótica em medicina – perspetiva histórica

A MA foi usada terapêuticamente pela primeira vez em 1910, por Davis, como material cirúrgico no tratamento de pequenos defeitos de pele em pacientes humanos ^[7,13]. Contudo, a referência à sua utilização em cirurgia oftalmológica data de 1940, quando De Rotth ^[12] a usou na reconstrução da superfície ocular em pacientes com simbléfaro ^[13,22]. Na altura, os resultados foram insatisfatórios, pois o autor não separou o âmnio do córion, cujas células são imunogénicas ^[7]. Os primeiros resultados favoráveis foram reportados por Sorsby e Simons, em 1946, ao usarem a MA no tratamento de superfícies oculares com queimaduras químicas agudas, utilizando MA seca, quimicamente processada (amnioplastia) ^[7]. As indicações para o uso da MA em cirurgia reconstrutiva expandiram-se entre as décadas de 1950 e 1990 na União Soviética ^[7], porém nos anos que se seguiram, este procedimento parece ter sido abandonado, sem

razão evidente ^[13]. Em 1993, Batlle & Perdomo reintroduzem a MA em cirurgia oftalmológica, após o seu uso na reparação de defeitos da conjuntiva e reconstrução de fórnices ^[13]. Contudo, é só em 1995 que a MA, em oftalmologia, adquire notoriedade mundial, após a publicação de um estudo realizado sob a liderança de Dr. Tseng ^[21], ao separar a membrana amniótica do córion e ao desenvolver um novo método de preservação com glicerina, utilizando-a no tratamento de coelhos com deficiência límbica total, relatando bons resultados em 77% dos casos, com melhoria na transparência corneal e redução da neovascularização ^[7,13]. Desde então, a sua utilização tem-se estendido a outras áreas da medicina, como na criação de curativos cirúrgicos, na reconstrução da cavidade oral e bexiga, na timpanoplastia, na artroplastia, no onfalocele e na prevenção da adesão tecidual em cirurgias do crânio, abdômen, pelve, vagina e laringe ^[3,7]. A partir dos anos 90, a MA tornou-se um substrato por excelência para o cultivo de células-tronco destinadas à reconstrução da superfície ocular, após um estudo publicado por Schwab ^[7], onde se reportam 19 casos com sucesso, nos quais a superfície ocular havia sido reconstruída usando transplantes de culturas *in vitro* de células epiteliais da córnea ^[7]. Mais recentemente, o transplante de membrana amniótica tem vindo a ser utilizado na reconstrução da superfície ocular nos casos de doenças cicatriciais da córnea e conjuntiva, com índices de sucesso significativamente promissores.

Histologia e propriedades da membrana amniótica

A placenta é constituída por duas membranas fetais: o córion, a mais externa, que é vascularizada e que contata diretamente com as células uterinas maternas ^[13] e, a membrana amniótica ou âmnios, que representa a mais interna membrana fetal, responsável por delimitar a cavidade amniótica e que contribui para a homeostasia do líquido amniótico ^[13]. O âmnios recobre todo o córion e reveste exteriormente o cordão umbilical, confundindo-se a nível do umbigo com a pele do feto. Durante a expansão da cavidade amniótica, o âmnios adere ao córion, sendo contudo, facilmente separado deste em qualquer momento da gravidez ^[21].

A MA é uma membrana translúcida ^[7,21] viscoelástica ^[18], constituída por um conjunto de cinco camadas, onde se destacam a camada epitelial, uma membrana basal espessa e uma matriz extracelular estromal avascular ^[8,17]. A sua espessura depende da quantidade de líquido e mucinas presentes na sua estrutura, podendo variar de 0,02 a 0,05 mm ^[13]. Não é vascularizada nem apresenta suprimento sanguíneo direto ^[7].

Camada epitelial

A camada epitelial consiste numa única camada celular com um elevado número de microvilosidades na sua superfície apical e está ligada à membrana basal ^[18]. É constituída por células epiteliais cuboídes derivadas da ectoderme, que formam uma camada uniformemente disposta sobre a membrana basal ^[6,17]. Estas células possuem uma orientação bem definida com um pólo apical em contato direto com o espaço luminal e um pólo basal em contato com a membrana basal, estando lateralmente ligadas por desmossomas, promovendo uma via efetiva no transporte de macromoléculas ^[6,7]. Intracelularmente, o núcleo é irregular e o nucléolo grande e homogéneo ^[6].

Estudos demonstraram a presença de vários fatores de crescimento no epitélio da MA, como o fator de crescimento epidermal (EGF), fator transformador de crescimento (TGF), fator de crescimento de queratócitos (KGF), fator beta de crescimento fibroblástico (FGF- β) e fator de crescimento de hepatócitos (HGF) que atuam facilitando a migração celular ^[7].

Membrana basal

A membrana basal é uma das mais espessas membranas encontradas no corpo humano ^[13], e é composta maioritariamente por colagénio do tipo I - V e VII ^[18] (também presentes nas membranas basais da córnea e da conjuntiva ^[13]) elastina, fibronectina, laminina e proteoglicanos ^[7,12,13]. O estudo das subcadeias do colagénio tipo IV e da laminina-1, laminina-5 e fibronectina revelou que a membrana basal amniótica se assemelha mais à membrana basal da conjuntiva do que à da córnea ^[18,21]. Os colagénios do tipo I, III e V são os principais responsáveis pela resposta mecânica da membrana amniótica e o colagénio do tipo VI proporciona filamentos de ancoragem na conexão da MA ^[18]. A elastina pertence a um complexo de proteínas insolúveis e relativamente pouco estruturadas, que são combinadas entre si para formar uma rede elástica, o que explica a característica elástica da MA, devido ao elevado número destas proteínas presente na membrana basal. A fibronectina fetal é uma proteína responsável por manter a estrutura da MA, devido aos seus múltiplos domínios de ligação às células, bem como aos componentes da matriz extracelular. A laminina, uma glicoproteína integrante do esqueleto estrutural da membrana basal, pode ter como função o fortalecimento da MA, ao ligar as células basais do epitélio ao colagénio IV. Os proteoglicanos são, de igual modo, componentes principais da membrana basal da MA ^[7]. Estas macromoléculas são responsáveis pela propriedade viscoelástica da MA,

mantendo a sua integridade tecidual. Desempenham, além disso, um papel importante na regulação e proliferação celular, promovendo, através de fatores de crescimento, processos de remodelação tecidual.

Matriz estromal

A matriz estromal é dividida em três camadas contíguas, mas distintas: a camada compacta (que está em contacto com a membrana basal) ^[13], a camada fibroelástica ^[7] e a camada esponjiforme (a mais externa), todas avasculares ^[13]. A camada compacta forma o principal esqueleto fibroso da MA e a camada fibroelástica é rica em tecido hialurónico fetal, que suprime a proliferação celular por alterar a regulação de TGF- β e diminuir a fibrose por inibir a proliferação e diferenciação dos miofibroblastos ^[6,13,18]. O TGF- β está presente em todo o estroma da córnea, com maior concentração na camada esponjosa, motivo pelo qual a MA reduz o processo de cicatrização, prevenindo leucomas após a remoção de pterígios ou diminuindo o *haze* corneano após queratotomias foto-refrativas (cirurgias refrativas), por exemplo ^[18]. O lado estromal da MA contém componentes raros de matriz celular, que suprimem o TGF- β , a proliferação e a diferenciação de miofibroblastos da córnea normal e dos fibroblastos límbicos ^[3,21]. Este tecido possui, igualmente, a capacidade de suprimir as citocinas inflamatórias da superfície ocular ^[14], incluindo a interleucina-1 α (IL-1 α), a interleucina-1 β (IL-1 β), a interleucina-2 (IL-2), a interleucina-8 (IL-8), o interferão- γ INF- γ , fator α de necrose tumoral (TNF- α) e fator de crescimento de fibroblastos (FNF) ^[7,18].

Propriedades biológicas da membrana amniótica

A MA tornou-se objeto de estudo, por parte de vários autores, devido às suas múltiplas propriedades e ao seu potencial em aplicação clínica, nomeadamente no tratamento das afeções da superfície ocular.

Vários estudos comprovaram que a membrana basal da MA promove o crescimento e diferenciação epitelial ^[7,22], reforça a adesão das células epiteliais basais e previne a apoptose epitelial ^[6,13]. Além disso, a MA possui inúmeras propriedades: antimicrobiana, anti-vírica, imunorregulatória, bacterioestática, anti-inflamatória, anti-aderente, anti-cicatrizial, anti-angiogénica e não é tumorigénica ^[3,7,14]. Verificou-se, também, que a MA possui a capacidade de segregar algumas moléculas com atividade pró-apoptótica.

A integridade estrutural, transparência e elasticidade da membrana basal torna-a um substrato ideal para o crescimento de células estaminais límbicas, por prolongar a vida celular e manter a sua clonogenicidade, e prevenir a apoptose das células epiteliais, o que explica a facilidade de reepitelização [7,18].

Além de promover a epitelização, agir como membrana basal e facilitar a migração celular [13], a MA possui propriedades anti-inflamatória e anti-angiogénica.

Desconhece-se o mecanismo exato [17], mas a MA parece agir como uma barreira ao filme lacrimal [13], reduzindo a quantidade de células inflamatórias e de células mediadoras da inflamação [21]. Na presença da MA, a inflamação da superfície ocular é significativamente menor, o que se justifica pela presença de inibidores de proteases [3], supressão da sinalização TGF- β [14], proliferação e diferenciação em miofibroblastos dos fibroblastos da córnea e limbo, impedindo, assim, a formação de cicatrizes [17,21].

A propriedade anti-inflamatória deve-se também às elevadas quantidades de inibidores de metaloproteinases de tecido responsáveis pelo controlo dos processos inflamatórios. Hao et al., identificaram a presença de RNA mensageiro para citocinas IL-1RA (receptor antagonista), potente inibidor da interleucina-1 (IL-1) [21], e inibidores teciduais de metaloproteinases (TIMP -1, -2, -3 e -4) e interleucina-10 (IL-10), que são potentes inibidores inflamatórios. [7,21]. A matriz estromal da MA também suprime a expressão de algumas citocinas inflamatórias, como a IL-1 α , IL-2, IL-8, INF- γ , TNF- β e FGF- β , o que pode ajudar a explicar as causas da diminuição da inflamação aquando do transplante de MA [14,18]. Alguns autores não deixam, no entanto, de referir as ações contraditórias das várias citocinas inibidoras e pró-inflamatórias identificadas na MA, como o facto de a interleucina-6 (IL-6) e a interleucina-8 (IL-8) serem pró-inflamatórias e, ao contrário, a IL-10 e a IL-1RA serem anti-inflamatórias [17].

Vários estudos comprovaram, ainda, que a presença da MA reduz a invasão por polimorfonucleares, que podem causar a morte dos queratócitos e também acelerar a apoptose dessas células [7]. Este efeito é notório quando a MA é utilizada a fresco, comparada à MA preservada, provavelmente porque a maioria das citocinas que estimulam a apoptose dos polimorfonucleares está presente no epitélio ativo da membrana [21].

A propriedade anti-inflamatória da MA deve-se, ainda, às elevadas quantidades de ácido hialurónico presentes na membrana basal, pelo fato de este possuir a capacidade de se ligar ao inibidor inter- α da tripsina, formando um complexo ativo, que é responsável pelos seus efeitos anti-inflamatórios [21].

Para além da propriedade anti-inflamatória, a MA possui também propriedades anti-angiogénicas, que podem estar relacionadas com as grandes quantidades de proteínas extracelulares como o colagénio tipo IV e VII, as laminina 1 e 5, a fibronectina, a angiostatina e a endostatina ^[7], que já se provou estarem envolvidas no processo da neovascularização. A presença da trombospondina-1 (TSP-1), um potente anti-angiogénico da MA, em todas as células epiteliais e em cerca de 20% das células mesenquimais ^[7], na camada epitelial da MA, pode explicar a sua atividade anti-angiogénica ^[13].

A presença nas células mesenquimais e epiteliais de RNA mensageiro para citocinas IL-1RA (recetor antagonista), inibidores teciduais de metaloproteínases (TIMPs) -1,-2,-3 e -4 e IL-10, potentes inibidores da inflamação, contribui, de igual modo, para o efeito anti-angiogénico da MA ^[7,13].

Segundo alguns autores a MA pode também funcionar como uma barreira física ^[3,6] que impede a migração e o crescimento endotelial, contribuindo para o seu efeito anti-angiogénico ^[7].

Outros estudos demonstraram existir propriedades anti-microbianas na MA e no líquido amniótico no processo de cicatrização ^[7]. O efeito anti-microbiano do âmnio e do córion têm sido demonstrados contra um grande número de bactérias como *Estreptococos hemolítico* do grupo A ^[7], *Estafilococos aureus*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa* ^[13,21].

Para além disso, a MA parece reduzir o risco de infeção pós-operatório, por conter cistina-E, um análogo dos inibidores da cisteína proteinase, com propriedades anti-víricas e anti-bacterianas.

Estudos imunogénicos da MA evidenciaram que as células epiteliais não expressam antígenos leucocitários humanos (HLA) A,B,C ou DR ^[6] ou β -2-microglobulinas ^[7], o que torna esta estrutura imunologicamente inerte, tornando-a excelente opção para enxerto, por não induzir rejeição ^[6,14]. Solomon et al. demonstraram que as células epiteliais da córnea, quando cultivadas em MA, apresentavam redução significativa na expressão dos mediadores e do RNA mensageiro, IL-1 α e IL-1 β , além de maior expressão de IL-1RA ^[7].

Obtenção e preservação da membrana amniótica

Seleção das dadoras de placenta

A MA utilizada em cirurgia oftalmológica é obtida a partir de placentas de cesarianas eletivas, ^[13] em grávidas seronegativas para a sífilis, hepatite B e C, vírus da imunodeficiência humana adquirida (VIH), papiloma vírus, citomegalovírus e toxoplasmose ^[7,14]. Estes testes são realizados no terceiro trimestre de gravidez e repetidos seis meses após o parto ^[7]. Somente quando estes últimos testes são negativos é que a MA pode ser utilizada, para evitar a possibilidade de um falso negativo para VIH, em virtude da janela imunológica do vírus ^[13,18]. Além disso, é necessário o consentimento informado a todas as pacientes dadoras de tecido. Não são utilizadas placentas de partos eutócicos, devido ao risco de contaminação pela população microbiana vaginal (autóctone ou patogénica) ^[13,18].

Preservação da membrana amniótica

A manutenção da membrana basal e do estroma são vitais para que a membrana implantada exerça a sua função na epitelização, e este deve ser o objetivo da preservação ^[7].

A preparação e preservação da MA são realizadas em condições assépticas ^[13,14]. O primeiro protocolo de preparação e criopreservação da MA foi descrito por Kim e Tseng, em 1995, e consiste na colheita da placenta por cesariana, em ambiente livre de contaminação, (câmara de fluxo laminar) removendo os coágulos sanguíneos por meio de lavagem com solução alcalina e com solução com antibióticos como estreptomicina, neomicina, penicilina e anfotericina-B ^[13,18]. Posteriormente, separa-se o âmnio do córion através de disseção romba ^[13,18] e insere-se em papel de nitrocelulose com a superfície epitelial voltada para cima, cortada em pedaços de 4x3 mm e armazenada em meio *Dulbecco (Dulbecco's Modified Eagle Medium)* e glicerol na proporção de 1:1 ^[7,18]. O dimetilsulfóxido pode ser utilizado como substância crioprotetora, em vez do glicerol. A seguir é armazenada a -80°C e deve ser transportada em gelo até ao momento da cirurgia, colocada em solução alcalina para ser restaurada para uso e aquecida a uma temperatura ambiente durante dez minutos ^[13]. Por este método de preservação, a MA pode ser utilizada, de forma segura e eficaz, por um período de 12 a 24 meses ^[14]. De uma placenta consegue-se processar, aproximadamente, 40 a 50 fragmentos de MA.

Outros métodos de preservação da MA têm sido propostos, como tratamento com glutaraldeído e politetrafluorotileno, a desidratação em temperatura ambiente, sílica gel, liofilização, irradiação com raios gama e a própria membrana fresca ^[7,14]. Neste tipo de preservação, também chamado de preservação hipotérmica, a membrana é mantida em meio de cultura no frigorífico a 4°C. Este método permite que o tecido seja utilizado num período de 7 a 12 dias após a data da colheita. A MA fresca também pode ser preservada em glicerol a 50%, pelo mesmo período de tempo ^[13]. Embora existam estudos sobre a eficácia do emprego da MA fresca, em cirurgias reconstrutivas da superfície ocular e se refira que existem vantagens na utilização da MA fresca ^[13] em detrimento da MA preservada, o risco de contaminação, especialmente por VIH (por estar no período de seroconversão), deve ser considerado, impedindo o seu uso frequente na prática clínica ^[17,18].

Fixação e orientação da membrana amniótica

Os objetivos principais do transplante de MA são a reconstrução da superfície ocular, a promoção da epitelização, alívio sintomático da dor e supressão da inflamação ^[13]. Dependendo da indicação para a qual é usada, existem três principais técnicas cirúrgicas pelas quais a MA pode ser aplicada na superfície ocular.

A fixação da MA sobre a superfície ocular é, geralmente, realizada através de fio de sutura *mononylon* 10/00, com suturas continuadas ou com pontos separados. Alternativamente ao fio, pode ser utilizado um adesivo tecidual. A cola de fibrina, uma mistura de fibrinogénio e trombina, pode ser colocada diretamente sobre a superfície ocular ou sobre a membrana amniótica, reduzindo o tempo de cirurgia e aumentando o conforto do paciente ^[13]. O lado da membrana a ser aplicado em contato com a superfície ocular pode ser feito com o epitélio voltado para baixo (técnica “*overlay*”), atuando como um penso, com a função de curativo ou como lente de contato biológica, para cobrir uma grande área da superfície do limbo ou da córnea ^[22], protegendo as células epiteliais em migração da ação de varrimento das pálpebras e das células inflamatórias agressivas e das proteínas do filme lacrimal ^[13]. Nesta técnica, uma grande porção de MA é colocada temporariamente na superfície do olho como um penso “natural” ^[14]. O penso é removido após duas ou três semanas.

Quando a membrana é aplicada com o epitélio e a membrana basal voltados para cima, (técnica “*inlay*”) é referida como um enxerto, permitindo o crescimento de novo epitélio corneano sobre a membrana basal ^[7]. Nesta técnica, a MA é aplicada como um substituto permanente e, conseqüentemente, o estroma da MA incorpora-se no tecido

^[13]. Dependendo da profundidade da lesão a recobrir, esta técnica pode ser usada com uma única ou múltiplas camadas de MA ^[13]. É geralmente suturada à córnea com sutura 10/00 *nylon* e à episclera e conjuntiva usando *vicryl* 9/00 ou 10/00 ^[13].

Há ainda a considerar a técnica “*sandwich*”, uma combinação das duas anteriores, podendo ser utilizadas várias camadas de membrana amniótica, uma agindo como enxerto e a outra, externa, agindo como lente de contato ^[22].

A MA tem, nos últimos anos, sido utilizada como substrato para expansão *ex vivo* de células estaminais, podendo ser usada intacta, total ou parcialmente desepitelizada. Neste caso, a MA funciona como uma matriz biológica e é colocada na superfície ocular juntamente com as células cultivadas. Esta técnica é principalmente usada para tratamento de deficiência de células estaminais do limbo ^[14].

Com o objetivo de reduzir possíveis ocorrências de irritação e inflamação da superfície ocular pelo uso de suturas, aquando do transplante de MA, vários estudos têm vindo a ser realizados no sentido de minimizar estas complicações. Em 2003, foi comercializado nos Estados Unidos da América o *Prokera®* (*Bio-Tissue, Inc., Florida*), um dispositivo que utiliza a MA criopreservada, recortada em anel duplo de policarbonato transparente flexível, com um diâmetro interno de 16 mm e externo de 21 mm. Aplica-se como uma lente de contacto terapêutica, sem suturas, e uma vez o tecido dissolvido, o anel é retirado ^[7,14,17].

Recentemente, investigadores alemães desenvolveram uma nova técnica de transplante de MA sem intervenção cirúrgica, “*suturless amniotic membrane transplantation*”, segundo a qual a MA é montada entre dois anéis (um anel exterior de silicone e um anel interior de aço, feito de arame dobrado), com a ajuda de um aparelho especificamente concebido para o efeito. Este método, designado de *AmnioClip*, foi testado em sete pacientes, com a MA colocada com o lado estromal na superfície ocular, tendo os investigadores concluído que o uso desta nova técnica de transplante de MA poderá vir a ser a estratégia terapêutica ideal para o tratamento das doenças da córnea ^[12].

Procedimentos cirúrgicos no transplante da membrana amniótica

O transplante da MA pode ser considerado um dos maiores desenvolvimentos na cirurgia da superfície ocular ^[14]. Segundo a literatura atual, o transplante da MA humana pode ser usado na reconstrução da superfície corneana ^[1], em casos como defeitos epiteliais persistentes com ulceração corneana ^[18,22], simbléfaro, perfurações da córnea

e descemetocelos, reconstrução da superfície da conjuntiva, queimaduras químicas e térmicas agudas, remoção de lesões epiteliais ou subepiteliais (queratopatia em banda, cicatrizes, após excisão de neoplasias da superfície ocular), queratopatia bolhosa sintomática ^[13,14] e deficiência parcial ou completa de células-tronco epiteliais ^[14] e na reconstrução da superfície da conjuntiva, em casos como queimaduras químicas agudas e síndrome de Stevens-Johnson, enxerto após remoção de pterígio e tumores ^[13] e reconstruções palpebrais. Outras indicações são as bolhas filtrantes e a trabeculectomia para olho com glaucoma, entre outras ^[7,14].

Na maioria dos casos, a MA é usada como substrato ou membrana basal adequada para facilitar o crescimento de novas células da córnea e/ou do epitélio conjuntival ^[1]. Neste caso, a membrana é utilizada como enxerto, sendo aplicada com a membrana basal (epitélio) para cima e a matriz estromal em aposição à córnea ou ao estroma epiescleral (técnica *onlay*) ^[7]. Noutros casos, particularmente na presença de inflamação aguda, a MA deve ser usada inicialmente para proteção contra os efeitos da inflamação ^[7]. Nestes casos, a MA deve ser usada como curativo biológico com a membrana basal suturada com a face epitelial voltada para a córnea, uma vez que o epitélio produz fatores anti-angiogénicos e anti-inflamatórios. Porém, esta técnica só é eficaz com MA não preservada, pois a MA preservada não apresenta células epiteliais viáveis. Duas membranas, uma com o epitélio para cima e a outra sobreposta a esta, com o epitélio para baixo, podem também ser utilizadas ^[22].

As membranas amnióticas também podem ser usadas como enxertos temporários ou permanentes ^[1]. Quando utilizada como enxerto temporário, a MA atua como curativo biológico, que reveste e protege a superfície ocular ^[14]. A reparação da córnea é, desta forma, sujeita a menor grau de inflamação, pois a MA limita a extensão dos danos provocados por polimorfonucleares recrutados para as áreas da lesão. O enxerto deve ser implantado com a face epitelial em contacto com o leito recetor ^[21]. Esta técnica permite que a membrana seja naturalmente eliminada ou removida ambulatoriamente ^[14] e pode ser utilizada em casos como defeitos epiteliais persistentes sem ulceração, transplante de córnea, síndrome de Stevens-Johnson aguda ou pós queratectomia superficial ^[21].

Quando utilizada como enxerto permanente, a MA permite a migração e a proliferação das células epiteliais da córnea ou da conjuntiva, tornando-se parte do substrato epitelial ^[21]. Deve ser aplicada com o estroma amniótico em contato com o leito recetor. As bordas da MA devem ser introduzidas por baixo da conjuntiva vizinha, para prevenir o deslocamento do enxerto e facilitar a migração epitelial sobre ele. Por se tratarem de

defeitos corneais persistentes, com ulceração, é recomendado o uso de transplante de múltiplas camadas de MA fixadas entre si, com suturas ou cola de fibrina [21]. O enxerto permanente de MA é indicado nos casos de defeitos epiteliais persistentes, com ulceração, queratopatia bolhosa, queratopatia em banda, remoção de cicatrizes, exérese de tumores e deficiência límbica [7].

Indicações do transplante da membrana amniótica na patologia da superfície ocular

Deficiência de células estaminais límbicas

Segundo a literatura, as doenças cicatrizantes da superfície ocular constituem a maior indicação para transplante de MA [7,14]. Qualquer agressão aguda ou crônica às células epiteliais do limbo, pode levar à sua perda parcial ou total [2]. As deficiências de células estaminais límbicas podem ser induzidas por afeções graves da superfície ocular de diversas etiologias, como trauma, doenças imunológicas e hereditárias, entre outras [2].

No caso de deficiência total de células estaminais límbicas, pode-se observar uma série de complicações com grave comprometimento da acuidade visual, como conjuntivalização da córnea, erosão recorrente, defeitos epiteliais persistentes, calcificação, inflamação crônica, necrose e até perfuração ocular [6,13]. Incluem-se, neste grupo, patologias como queimaduras químicas e térmicas, síndrome de Stevens-Johnson [2] e penfigóide cicatricial [7], com manifestações de dor, fotofobia, desconforto e hipovisão [2]. O tratamento de pacientes com deficiência de células estaminais límbicas depende da extensão (total ou parcial) [13] e da unilateralidade ou bilateralidade [2].

Intervenções cirúrgicas como a queratoplastia lamelar ou penetrante têm, nestes casos, mostrado a sua eficácia, porém torna-se necessária posterior restauração da superfície ocular e das células estaminais [6,13]. O transplante de limbo córneo-conjuntival é encarado como uma opção promissora. Em 1983, Thoft e Friend, realizaram a primeira tentativa de transplante de limbo autólogo para o tratamento de deficiência de células do limbo unilateral [2], devido ao fato de o epitélio límbico conter células estaminais corneanas, fundamentais para a proliferação e diferenciação do epitélio corneano [2]. Este procedimento, no entanto, provou estar limitado pelo grau de deficiência no olho afetado, com o risco de desestabilizar a superfície ocular no olho saudável [2]. Vários estudos comprovaram que, na presença de casos com deficiência total bilateral de células estaminais límbicas, o transplante de limbo alógeno, seja de dador vivo ou cadáver, era a opção mais viável, uma vez que estes casos não estão indicados para a

cirurgia de queratopatia penetrante ^[2]. No entanto, a imunossupressão sistêmica é necessária para evitar a rejeição do implante alógeno, podendo observar-se efeitos adversos, como anemia, hipoglicemia, creatinina elevada e problemas hepáticos.

Neste contexto, a MA surge como uma opção a considerar, para o tratamento de casos com deficiência de células estaminais límbicas. Tsubota et al. foram os primeiros a usar em clínica oftalmológica, com bons resultados, o transplante de MA em casos de queimaduras químicas e térmicas, síndrome de Stevens-Johnson e penfigóide cicatricial ^[7]. Shimazaki et al., reportaram resultados semelhantes, usando MA preservada em 5 pacientes com queimadura química e 2 pacientes com queimadura térmica da superfície ocular ^[7].

Tseng et al. usaram MA no tratamento de 31 olhos de 26 pacientes com parcial ou total deficiência de células estaminais límbicas e concluíram que o transplante de MA isolado foi eficaz nos casos de deficiência parcial, enquanto que nos casos de deficiência total, foi necessária a associação com transplante de limbo ^[3,7]. Espana et al. trataram um paciente com deficiência límbica total, com transplante de limbo associado à MA e posteriormente realizaram queratoplastia penetrante. Concluíram que houve recuperação (sem cicatriz) do fenótipo do epitélio da córnea após o implante de MA associado ao transplante de limbo ^[7]. O transplante de MA associado ao transplante do limbo tem sido usado com sucesso em pacientes com deficiência difusa de células estaminais límbicas e lesões graves da superfície ocular, como síndrome de Stevens-Johnson, penfigóide cicatricial avançado e queimaduras químicas e térmicas ^[6]. Em pacientes com deficiência grave de células estaminais límbicas, é aconselhada a associação de MA, transplante límbico e queratoplastia penetrante ^[3,7]. Nos casos de deficiência ligeira, o transplante de MA isolado parece ter bons resultados ^[8].

Cultura de células estaminais límbicas

Embora o resultado da reconstrução da superfície ocular em olhos com deficiência de células estaminais límbicas tenha melhorado com o surgimento de novas técnicas como o transplante do limbo, problemas ainda permanecem, principalmente quando existe uma deficiência de células estaminais límbicas bilateral, necessitando o paciente de um dador, com risco de rejeição e necessidade de imunossupressão. A MA tem sido utilizada como substrato para a cultura de células estaminais límbicas, devido à sua capacidade de preservar e expandir as células germinativas ^[8,13,18]. Pellegrini et al., em 1997, descrevem pela primeira vez o uso de células estaminais límbicas autólogas expandidas *ex vivo* no tratamento de 2 doentes com insuficiência límbica total unilateral

[2]. Desde então, vários autores têm publicado as suas experiências com auto e alotransplantes de células cultivadas *ex vivo*, tanto a partir de doadores vivos familiares, como de doadores cadáveres, e múltiplas variações desta técnica têm sido descritas. A técnica consiste na cultura de células epiteliais límbicas da córnea sobre a MA, realizando-se uma biópsia límbica (muito menor do que a requerida no transplante de limbo) [13], para a obtenção de células estaminais viáveis, cuja expansão se consegue em sistema de cultivo em suspensão ou explante [2]. A MA pode ser utilizada intacta ou total/parcialmente desepitelizada. Quando desepitelizada, promove um crescimento celular mais rápido e dá origem a células mais diferenciadas, que estratificam e aderem ao estroma da membrana, como comprovado por Kozumi et al., em 2000, num estudo experimental [7]. A membrana intacta permite obter células mais indiferenciadas [21], sendo a sua eficácia maior na manutenção do fenótipo da célula estaminal [2].

O transplante autólogo de cultura *ex vivo* de células epiteliais do limbo tem sido usado com sucesso para tratamento de deficiência unilateral, parcial ou total de células estaminais límbicas [14,21], promovendo uma rápida epitelização e menor inflamação, além da vantagem de usar menos tecido do olho dador do que o tradicional transplante alógeno [2].

Defeitos epiteliais persistentes

Vários fatores, como lesões químicas [3], insultos mecânicos provenientes de anomalias da pálpebra [16], olho seco grave e trauma [3,16] e uma deservação sensorial (queratopatia neurotrófica) [13] podem interferir com o epitélio da córnea, evoluindo para defeitos epiteliais persistentes [16]. Quando não tratados atempadamente, os defeitos epiteliais persistentes podem originar complicações como úlceras de Dellen, descemetocelos e até perfurações da córnea, levando à perda de visão [3,16]. O tratamento clínico tradicional inclui a aplicação de colírios, lubrificantes, fatores de crescimento, lentes de contacto terapêuticas e tarsorrafia [2,16]. Quando esta terapêutica falha, é aconselhado o transplante de MA.

Úlceras tróficas e perfurações corneanas

Lee e Tseng, em 1997, foram os primeiros a demonstrar o sucesso de transplante de MA no tratamento de defeitos epiteliais persistentes com úlcera corneana [3,16] por promover a reepitelização e reduzir a vascularização, obtendo bons resultados estéticos [16]. Outros autores, como Kruse et al., aplicaram a MA em camadas múltiplas em úlceras

profundas da córnea, a fim de preencher o defeito do estroma ^[6], sendo o mesmo procedimento utilizado por Prabhasawat ^[16], obtendo resultados satisfatórios.

Hick et al. associaram o transplante de MA à aplicação de cola de fibrina em pacientes com perfurações corneanas de até 3 mm, com uma taxa de sucesso de 92% em olhos com perfurações corneanas comparado com uma taxa de 74% em olhos não perfurados com o uso isolado de MA ^[18].

Gris et al. realizaram exame histopatológico das córneas de dois pacientes com úlceras neurotróficas, que foram tratados com implante de MA e posteriormente (3 e 7 meses depois) submetidos a queratoplastia penetrante. Em ambos os casos, a epitelização sobre a membrana basal implantada ocorreu em poucas semanas, mas a MA reabsorvida foi substituída por tecido fibrótico, o que comprometeu a transparência ^[10].

A MA, aplicada em camadas múltiplas, é usada em úlceras profundas da córnea, descemetocelos e microperfurações da córnea ^[13,14] com índices de sucesso de 72,7% a 82,3% ^[13]. Quando se verifica a ocorrência de uma perfuração da córnea, a queratoplastia lamelar e penetrante são as técnicas mais usadas para restaurar a integridade do globo ocular ^[3,16].

Queimaduras químicas e térmicas

O objetivo da aplicação de MA em casos de queimaduras químicas e térmicas é reduzir a inflamação, promover a epitelização e prevenir a necrose tecidual, a fim de se evitar a perda visual ^[13]. Tsubota et al. foram os primeiros a usar a MA em casos de queimaduras químicas ou térmicas, síndrome de Stevens-Johnson e penfigóide cicatricial, com bons resultados ^[7]. Outros autores como, Gris et al. demonstraram a eficácia do uso da MA na reconstrução da superfície ocular em pacientes com lesão química com calcificação da córnea, esclera e isquemia escleral, ocorrendo epitelização e revascularização do defeito sobre o implante ^[9]. Em casos leves e moderados, a MA parece diminuir a reação inflamatória e a formação de simbléfaro ^[13]. Nos casos mais graves, a aplicação da MA pode ser benéfica, pois evita a inflamação ^[7], reduz a formação de cicatrizes e aderências ^[18]. O transplante de limbo autólogo ou alógeno, associado ao transplante de MA, pode ser necessário na fase mais tardia do tratamento, quando se verificam lesões das células epiteliais límbicas, essenciais para a reconstrução do epitélio corneal ^[18].

Tumores conjuntivais e neoplasias da córnea

A MA tem, igualmente, sido usada na reconstrução da superfície ocular, seguida de remoção total de tumores benignos ou malignos^[8] e lesões conjuntivais, em associação com terapias como crioterapia, radiação, beta terapia e mitomicina C^[7,8].

Meller et al. usaram transplante de MA para recobrir grandes áreas de defeito conjuntival após ressecção de conjuntivocalasia, em 47 olhos de 41 pacientes, com resultados satisfatórios^[7]. Posteriormente, Gunduz et al. observaram a formação de simbléfaro e uma deficiência parcial de células estaminais límbicas, após ressecção e aplicação da MA em 10 pacientes com neoplasias da superfície ocular^[17]. Outros autores, como Espana et al., utilizaram a MA na reconstrução da superfície ocular após ressecção de neoplasias extensas da superfície ocular, com sucesso^[8]. Segundo a literatura, o transplante de MA, associado a outras terapias como interferão subconjuntival e mitomicina C, provou ser uma técnica eficaz na promoção da epiteliação da superfície ocular após ressecção de grandes áreas em neoplasias da superfície ocular^[8].

Queratopatia em banda

A queratopatia em banda é uma patologia produzida pelo aumento de sais de cálcio, geralmente na zona interpalpebral, resultando em irritação ocular e destruição do epitélio da córnea^[9]. Os pacientes com queratopatia em banda sentem geralmente dor, sensação de corpo estranho, desconforto pela rutura do epitélio e pela instabilidade da superfície corneana. O tratamento primário inclui a remoção dos depósitos de cálcio por quelação com EDTA ou queratectomia lamelar superficial^[9]. O transplante de MA foi indicado por Kwon et al. em 2004, associado à queratectomia lamelar superficial e quelação com EDTA. Estudos demonstraram que a MA utilizada após tratamento primário cirúrgico, é eficaz, com alívio da dor em cerca de 93% dos pacientes e melhoria da acuidade visual em 44% dos olhos lesados^[9]. Anderson et al. reportaram, igualmente, igual taxa de sucesso ao realizarem queratectomia lamelar superficial com ou sem quelação com EDTA, seguido de transplante de MA, em 16 pacientes, com melhoria da superfície ocular e alívio da dor em 15 olhos^[7].

Queratopatia bolhosa sintomática

A queratopatia bolhosa sintomática é uma patologia grave, e é cada vez mais frequente devido ao aumento de cirurgias de catarata realizadas por facoemulsificação. O

transplante de MA tem sido utilizado nestes casos ^[7], com resultados pouco conclusivos ^[18]. A sua eficácia tem sido comprovada no tratamento paliativo de pacientes com pouca acuidade visual, ou como medida temporária em pacientes intolerantes a lentes de contacto terapêuticas indicados para transplante da córnea ^[13].

Pires et al., avaliaram 50 pacientes com dor intolerável, durante um período de 33,8 semanas e concluíram que, após cirurgia onde foi aplicada MA, 90% dos pacientes não manifestaram recorrência de dor ou bolhas ^[17]. O mecanismo de alívio da dor permanece incerto, mas parece advir da capacidade da MA facilitar a adesão entre as células.

Reconstrução da superfície da conjuntiva

A conjuntiva faz parte da superfície ocular e sofre as mesmas agressões que a córnea nas doenças cicatrizantes. A maioria dos procedimentos utiliza a MA na reconstrução da superfície ocular, seguida de queimaduras ou doenças cicatriciais da córnea e conjuntiva ^[7]. Os enxertos conjuntivais e da mucosa têm sido utilizados na reconstrução da superfície ocular, apesar do efeito inestético, risco de infeção e disponibilidade limitada ^[13]. A utilização da MA na reconstrução conjuntival foi, como já foi referido, utilizada pela primeira vez por De Roth e desde então tem vindo a ser aplicada em casos como excisão de tecido cicatricial conjuntival, excisão de tumores, conjuntivocalase, penfigóide ocular cicatricial e síndrome de Stevens-Johnson ^[7].

Pterígio

O pterígio é um processo degenerativo límbico da córnea, que se apresenta como uma massa fibrovascular, situada em 90% dos casos nasalmente, podendo invadir a córnea e provocar alterações cosméticas, défice de acuidade visual e irritação ocular.

O tratamento do pterígio é um tanto controverso, e vários tratamentos têm sido indicados na literatura ^[21]. A técnica de cirurgia de exérese simples, com exposição escleral, para o tratamento de pterígio primário, apresenta taxas elevadas de índices de recorrência ^[22], com valores até 50% ^[7]. Uma alternativa terapêutica, descrita por vários autores, como eficaz, é o transplante de conjuntiva autólogo, por levar a uma menor recidiva de pterígio, comparada com outras técnicas cirúrgicas. Esta técnica não provoca cicatriz ou perda de motilidade conjuntival, porém o paciente necessita de ter conjuntiva bulbar em quantidade suficiente para ser transplantada ^[6,17] e não está indicada para pacientes que necessitem de futura cirurgia filtrante ^[13]. Em pterígios de cabeça dupla nem sempre

se consegue recobrir toda a área de esclera exposta ^[13]. Outras técnicas para o tratamento de pterígio recidivado é a do retalho conjuntival superior e/ou o uso de terapias clínicas coadjuvantes para reduzir as taxas de recorrência, como o uso de antimicóticos (mitomicina C). O seu uso intraoperatório é eficaz, com uma taxa de recorrência de pterígio entre 2,7% e 12,5% ^[3]. Foram, no entanto, observadas algumas complicações após o uso de mitomicina C, como queratite pontuada superficial, edema corneano, necrose escleral tardia, infecção bacteriana, catarata e endoftalmite ^[5,11]. Vários estudos, como os de Tseng e Tsubota mostraram que o transplante de MA pode ser indicado para a reconstrução da superfície conjuntival como uma alternativa às técnicas convencionais. As técnicas de recorrência encontradas na literatura são muito variáveis, com valores entre 3% (Solomon et al.) ^[20] e 25% (Shimazaki et al.) ^[19].

Ao atuar inibindo a fibrose conjuntival, a MA restaura as funções das células límbicas após o seu enxerto no limbo, apresentando bons resultados nos casos de pterígios recorrentes associados a simbléfaro grave ^[3,15]. Embora esta técnica tenha apresentado, no início uma taxa de recorrência de 37,5%, em casos de pterígio recorrente ^[18], registou-se uma sensível redução nas mesmas (2% a 7%), devido a desenvolvimentos recentes nas técnicas de obtenção e processamento da MA ^[15].

Apesar de poderem surgir complicações como granuloma e simbléfaro ^[15], e da possibilidade de nova recidiva da lesão, o uso da MA no tratamento do pterígio recidivado é uma terapia eficaz nos casos onde o transplante conjuntival não é aconselhado (pacientes com pterígio bilateral ^[13], patologias conjuntivais cicatrizantes e pacientes que necessitam futuramente de cirurgia filtrante para tratamento do glaucoma) ^[3,15]. Nos casos de pterígio primário, o transplante de MA associado ao transplante de conjuntiva autóloga, parece ser um método eficaz e com baixo grau de recidiva ^[15].

Glaucoma

Segundo a literatura, a MA representa uma opção alternativa viável a ser usada em cirurgia de glaucoma ^[7]. Fujishma et al. realizaram trabeculectomias de base límbica em pacientes com glaucoma primário de ângulo aberto. Um fragmento de MA foi colocado sobre o retalho escleral superficial e suturado, com resultados satisfatórios em 13 dos 14 olhos ^[6,17]. Gomes et al. usaram transplante de MA em 4 olhos de 4 pacientes que apresentavam complicações pós trabeculectomia com mitomicina C, tendo obtido excelentes resultados. Num dos casos foi, no entanto, necessário colocar lente de contacto terapêutica ^[7].

A MA tem sido usada na cirurgia filtrante como adjunto para reduzir a cicatrização, como retalho nas bolhas com vazamento da esclera exposta nos implantes valvulares ^[7]. Em cirurgias anti-glaucomatosas, a MA tem sido usada com o objetivo de diminuir a reação inflamatória e diminuir a cicatrização, podendo até funcionar como substituto aos antifibróticos.

Limitações da Membrana Amniótica

O uso do transplante de MA tem vindo, ao longo dos anos, a ser cada vez mais utilizado em vários procedimentos na área da medicina oftalmológica, com poucos relatos de insucesso. Segundo a literatura atual, a MA não deve, no entanto, ser usada indiscriminadamente, podendo, por vezes, observar-se algumas complicações. O risco de transmissão de infeções bacterianas ou fúngicas causadas por tecido contaminado ou a transmissão de uma infeção sistémica viral, são complicações que podem, contudo, ser minimizadas, respetivamente com o adequado processamento da MA e a realização de exames de rotina na paciente dadora ^[13,17]. Outras complicações associadas ao transplante de MA prendem-se com o facto de a membrana se poder dissolver antes de se completar a epitelização ^[3], de poder ocorrer necrose da MA por ação das enzimas proteolíticas quando existe inflamação intensa e, ainda, ao facto de a membrana não aderir adequadamente à superfície quando a face de contato não é a mesenquimal ^[7]. No período pós-operatório pode-se registar, por vezes, a formação de hematomas por baixo da membrana ^[18] ou de granulomas ^[7] relacionados com o uso de suturas ou inflamação persistente, provavelmente relacionados com a patologia de base do paciente.

CASOS CLÍNICOS

Material e métodos

Este estudo retrospectivo incluiu todos os doentes submetidos a cirurgia reconstrutiva da superfície ocular por transplante de membrana amniótica, no período de janeiro de 2014 a dezembro de 2016, no Hospital de São João. Os doentes selecionados foram eleitos a transplante de membrana amniótica no contexto de patologias da córnea, como, úlceras tróficas, microperfurações e queratopatia em banda. Posteriormente, procedeu-se à recolha e análise dos seus registos clínicos e cirúrgicos.

O estudo foi realizado de acordo com a Declaração de Helsínquia para a ética investigacional e os procedimentos locais para a aprovação da ética foram estritamente seguidos.

Os dados clínicos foram recolhidos através do sistema informático do Centro Hospitalar de São João e, a cada participante, foi atribuído um código individual, de forma a ser respeitado o anonimato e confidencialidade.

Adicionalmente, foi realizada uma revisão da literatura alusiva ao tema em estudo, com recurso à base de dados de artigos científicos PubMed® (*Public Medical Literature Analysis and Retrieval System Online*), incluindo exclusivamente artigos originais, relatos de casos e revisões sistemáticas, publicados até ao ano de 2016. Foram utilizadas palavras-chave para a pesquisa dos artigos, como, *amniotic membrane, transplantation, ophthalmology, ocular surface reconstruction, properties e indications* (termos MeSH) associados ou não e, por vezes, complementados por termos específicos.

Pacientes

De um grupo de estudo de 12 pacientes (13 olhos), 6 apresentavam diagnóstico de úlcera neurotrófica da córnea (úlceras neurotróficas em paralisia facial periférica, úlcera neurotrófica secundária a queratopatia bolhosa, úlcera da córnea persistente, úlcera neurotrófica bilateral com retinopatia diabética grave e glaucoma neovascular, úlcera da córnea marginal periférica inferior no contexto de úlcera de Mooren e úlcera epitelial persistente herpética), 3 com queratopatia em banda, 1 com perfuração espontânea após exérese de pterígio, 1 com diagnóstico de distrofia nodular da córnea e 1 paciente com distrofia lattice com defeito epitelial persistente.

Todos os pacientes foram submetidos a exame oftalmológico completo e a avaliação da superfície ocular obedeceu a critérios de exame microscópico detalhado. Avaliou-se o padrão da superfície ocular (transparência, regularidade, presença de queratinização), presença de neovascularização e o tipo de coloração por fluoresceína. A avaliação oftalmológica completa foi repetida nas primeiras semanas do pós-operatório.

Resultados

Nas 3 pacientes do sexo feminino (3 olhos) que foram submetidas ao transplante de membrana amniótica por queratopatia em banda, a paciente MISS tinha sido previamente transplantada por queratopatia bolhosa, tendo desenvolvido falência de enxerto e queratopatia em banda secundária. A paciente foi submetida a queratectomia lamelar e posteriormente a implante de membrana amniótica com o objetivo de melhorar a cicatrização e preparar um novo enxerto da córnea, com resultados satisfatórios. A paciente MCVI apresentava queratopatia em banda em olho inviável por glaucoma. Após quelação da placa de cálcio e queratectomia lamelar, foi submetida a transplante de membrana amniótica, para alívio da dor, sem objetivo de aumentar a viabilidade funcional. A paciente SMVS foi igualmente submetida a transplante de MA por queratopatia em banda dolorosa após queratectomia lamelar. Apresentava um olho inviável na sequência de glaucoma secundário a vitrectomia. A MA foi aplicada em sistema de *overlay*, observando-se completa epitelização da córnea após 4 semanas de pós-operatório.

Dos 7 olhos dos 6 pacientes (4 do sexo masculino e 2 do sexo feminino) diagnosticados com úlceras neurotróficas da córnea submetidos a transplante de membrana amniótica, a paciente MRM apresentava uma úlcera neurotrófica em paralisia facial periférica que, após 2 meses, evoluiu para úlcera de córnea marginal inferior tendo-se provado refratária ao tratamento convencional com lubrificação e antibioterapia. Foi efetuado o transplante de MA com a técnica de *inlay* e *overlay* com lente de contacto, tendo ocorrido completa epitelização da córnea 4 semanas após o procedimento cirúrgico. O mesmo resultado foi obtido no paciente ACC, nas 3 semanas que se seguiram ao transplante de MA com a técnica *overlay* para preparação de futuro transplante da córnea num diagnóstico de úlcera neurotrófica secundária a queratopatia bolhosa. O paciente CASG apresentava úlcera da córnea persistente após reativação de úlcera herpética. Em associação ao tratamento local e sistémico, foi submetido a transplante de MA com utilização das técnicas *inlay* e *overlay* para encerramento do defeito epitelial. Por se verificar apenas uma melhoria parcial, foi necessária, neste caso, uma segunda intervenção, 6 semanas depois, tendo-se registado uma completa cicatrização de defeito epitelial. O paciente HMSL, diabético, apresentava um quadro clínico com retinopatia diabética grave, glaucoma neovascular e úlcera da córnea neurotrófica bilateral. Utilizando as técnicas *inlay* e *overlay* foi efetuado com sucesso o transplante de MA para encerramento da úlcera da córnea que ocorreu 4 semanas após a intervenção. O paciente HCD foi submetido a encerramento primário de úlcera da córnea marginal periférica inferior, no contexto de úlcera de Mooren, no serviço de

urgência, sem sucesso. Posteriormente, foi realizada cirurgia de transplante de MA (técnica *inlay* e *overlay*). Após 3 semanas verificou-se completo encerramento da córnea com completa epitelização da ulceração. Contudo, o paciente necessitou de terapêutica tópica e sistêmica imunossupressora. Por último, a paciente CRCC foi submetida a transplante de MA com a técnica *overlay* por úlcera epitelial persistente herpética. Observou-se cicatrização completa da úlcera após 14 semanas com um único enxerto de MA. O procedimento foi acompanhado de terapêutica tópica e sistêmica com antivírico e corticosteroide.

O paciente MPV, diagnosticado com distrofia lattice, foi submetido a transplante de córnea com defeito epitelial persistente. Seis semanas depois, foi realizada nova intervenção cirúrgica com transplante de MA devido a ausência de epitelização. Foi, neste caso, necessário segundo enxerto de MA (4 semanas depois), após se verificar parcial epitelização. Nas 3 semanas após a segunda intervenção, verificou-se completa epitelização da córnea.

O paciente JP apresentava distrofia nodular anterior da córnea, tendo sido submetido a queratectomia lamelar e transplante de MA. Num período de 3 semanas, registou-se melhoria da acuidade visual (de 0,2 para 0,7 cc) e completa epitelização da córnea.

O paciente JMAM foi submetido a transplante de MA (técnica *inlay* e *overlay*) por perfuração espontânea após cirurgia de exérese de pterígio, na sequência de encerramento primário no serviço de urgência, sem sucesso. Após 4 semanas, o defeito estava encerrado, não sendo necessário qualquer procedimento posterior.

DISCUSSÃO

Como já foi referido, os mecanismos fisiológicos pelos quais a MA atua são alvo de estudo por parte de vários investigadores. Existem relatos documentados na literatura de que atue modulando os níveis de citocinas, fatores de crescimento, enzimas e recetores locais. A criopreservação, o método utilizado para preservação de MA no IPST (Instituto Português de Sangue e Transplantes)penfigo, é um método seguro e eficaz por mais de um ano com as vantagens das propriedades antimicrobianas. O transplante de MA parece ser uma excelente alternativa para diversas patologias oculares, como pudemos observar, com elevada taxa de sucesso e um baixo índice de complicações, se asseguradas as suas condições de obtenção, preservação e manuseio.

A MA promove a epitelização, pode atuar como substrato basal, facilitando a migração de células epiteliais límbicas, reforçando a adesão do epitélio à camada basal,

promovendo a diferenciação celular e prevenindo a apoptose celular. Pode ainda atuar como protetor mecânico ao atrito palpebral e às células inflamatórias e proteínas do filme lacrimal.

O transplante de MA em patologias como defeitos epiteliais persistentes, queratopatia bolhosa e úlceras neurotróficas com ou sem ulceração da córnea, parece ser uma opção eficaz, definitiva ou temporária, até que um procedimento cirúrgico definitivo seja realizado. Em alguns casos, o transplante de MA pode mesmo adiar ou evitar futuros procedimentos cirúrgicos, poupando o paciente a uma intervenção mais arriscada.

Nos casos em estudo, a MA foi usada, essencialmente como substrato ou membrana basal adequada para promover o crescimento de novas células da córnea, usando diferentes técnicas para recobrir a área do defeito. Em pacientes com lesões extensas e deficiência de células germinativas do limbo (paciente CRCC), foi aplicada uma única camada de MA pela técnica de *overlay*, verificando-se a cicatrização da lesão 14 semanas após o procedimento cirúrgico. Em pacientes com úlceras profundas da córnea, foi aplicada MA em múltiplas camadas, a fim de preencher o defeito estromal. Este procedimento justifica-se pelas diferentes funções exercidas pela MA em cada uma das técnicas. A maior quantidade de matriz disponibilizada nesta técnica acelera a cicatrização epitelial devido ao maior número de fatores de crescimento envolvidos: nos pacientes CASG e HMSL observou-se completa epitelização após 3 ou 4 semanas pós-operatório, comparado com o paciente MCVM (14 semanas). O implante de múltiplas camadas foi usado, de igual modo, com sucesso no caso do paciente JMAM, para tratamento de úlcera de Mooren, demonstrando que o transplante de MA se revela eficaz no tratamento de perfurações de origem autoimune. No caso do paciente ACC, com úlcera neurotrófica secundária a queratopatia bolhosa, o transplante de MA funcionou apenas como suporte temporário durante a preparação do olho para o transplante da córnea e a aplicação de lente de contacto associada ao transplante de MA revelou-se uma alternativa eficaz na cicatrização completa do defeito epitelial, no caso da paciente MRM. O transplante de MA em patologias como defeitos epiteliais persistentes, úlceras neurotróficas com e sem perfuração da córnea, pode ser considerado um tratamento eficaz, por promover o crescimento epitelial e facilitar a cicatrização. Todos os pacientes submetidos a transplante de MA obtiveram resultados satisfatórios, tendo-se observado completa epitelização nos casos em análise, embora o pós-operatório com terapêutica tópica e sistémica com antivíricos e corticosteroides se tenha revelado necessária em dois casos (MCVM e JMAM) até completa epitelização e supressão da inflamação.

A MA revelou-se, igualmente, eficaz no tratamento dos olhos com queratopatia em banda, associada a queratectomia lamelar e superficial e queilação nos três casos analisados, com alívio da dor e completa epitelização da córnea (pacientes SMVS e MCVM) e como suporte temporário para futuro transplante de córnea (paciente MISS). No Paciente HCD, diagnosticado com distrofia nodular anterior da córnea, o transplante de MA, associado a queratectomia lamelar, pode ser considerado uma alternativa eficaz por promover completa epitelização e melhor acuidade visual. Em casos como o do Paciente MPV (distrofia lattice com transplante de córnea e defeito epitelial persistente), revelou-se necessário segundo transplante de MA para a cicatrização total do defeito epitelial. A MA é uma alternativa a considerar no tratamento cirúrgico do pterígio, especialmente nos pterígios primários, verificando-se uma taxa de recorrência menor se comparado com o encerramento primário. O paciente CRCC foi submetido a transplante de MA, usando a associação das técnicas *inlay* e *overlay*, após encerramento primário, sem sucesso, com perfuração espontânea. Quatro semanas após o implante de MA observou-se completo encerramento do defeito epitelial.

O transplante de MA pode ser considerado a alternativa, por excelência, nas cirurgias da superfície ocular, devido não só às propriedades da membrana amniótica, como à relativa facilidade do procedimento, realizado em ambulatório com anestesia local, e à sua isenção de intervenção intraocular e do uso de imunossupressores. A incidência de infecção pós-operatória é muito baixa, não se tendo observado sinais de infecção em nenhum dos casos da presente análise, revelando-se um método seguro com raras complicações associadas. Reforça-se, no entanto, a importância do dador, a escolha criteriosa dos pacientes e a manutenção de condições assépticas durante todo o procedimento per e pós-operatório como fundamentais para o sucesso do transplante de MA.

Embora a amostra dos casos apresentados seja pouco significativa e enviesada por se reportar a um período de tempo muito limitado, esta técnica poderá ser considerada uma boa alternativa terapêutica na reconstrução da superfície ocular em pacientes portadores de várias afeções. De uma forma geral, a MA reduziu a inflamação, promoveu a cicatrização do epitélio e reduziu a irritação nas alterações da córnea.

Por ser um método barato e de fácil obtenção, o uso da MA devia ser reforçado e alargado a outras intervenções cirúrgicas na área da oftalmologia em instituições públicas, como o caso do Hospital de São João, centro especializado por excelência, onde o transplante de MA deveria ocupar um lugar de maior destaque.

DECLARAÇÃO DE INTERESSES FINANCEIROS

Nenhum benefício ou fundo foi recebido em apoio a este estudo.

BIBLIOGRAFIA

1. Anastasiu V., Serban M., Davila C., Burcea M., Pop M., Gheorghe A.
New clinical application of amniotic membrane transplant for ocular surface disease
J Medicine. June 2016, 177-179
2. Atallah M., Palioura S., Perez V., Amescua G.
Limbal stem cell transplantation: current perspectives
Clinic. Ophthalmol. 2016; 10; 593-602
3. Azuara-Blanco A., Pillai C.T., Dua H.
Amniotic membrane transplantation for ocular surface reconstruction
Br.J.Ophthalmol. 1999; 83: 399-402
4. Chen H.J., Pires R.T., Tseng S.C.
Amniotic membrane transplantation for severe neurotrophic corneal ulcers
Br.J. Ophthalmol. 2000 Aug; 84 (8): 826-33
5. Chen P.P., Ariyasu R.G., Kasa V., La Bree L.D., Mc Donnel P.J.
A randomized trial comparing mitomycin C and conjunctival autograft after excision of primary pterygium
Arm.J. Ophthalmol. 1995; 120: 151-60
6. Dua H., Azuara-Blanco A.
Amniotic membrane transplantation
Br.J. Ophthalmol. 1999; 83: 748-752
7. Dua H., Gomes J., King A., Maharajan V.
The Amniotic Membrane in Ophthalmology
Surv. Ophthalmol. 2004Jan-Feb; 49 (1): 51-57. Review

- 8.** Espana E.M., Prabhasawat P., Grueterich M., Solomon A., Tseng S.C.G.

Amniotic membrane transplantation for reconstruction after excision of large ocular surface neoplasias

Br.J. Ophthalmol. 2002; 86: 640-645
- 9.** Gris O., López-Navidad A., Caballero F., Del Campo Z., Adán A.

Amniotic membrane transplantation for ocular surface pathology: long-term results

Transpl. Proceedings 2003; 35: 2031-2035
- 10.** Gris O., Wooley-Dod C., Guell J.L., Tresserra F., Lerma E., Corcostegui B., Adán A.

Histological findings after amniotic membrane graft in the human cornea

Ophthalmology 2002; 109: 508-512
- 11.** José N.K., Alves M.R., Cardillo J.A., Poterio M.B.

An improved surgical technique for improved pterygium excision with intraoperative application of mitomycin-C

Ophthalmic Surg.Lasers, 29: 685-687, 1998
- 12.** Kotomin I., Valtink M., Hofmann K., Frenzel A., Morawietz H., Werner C., Funk R., Engelmann K.

Suturless Fixation of Amniotic Membrane for Therapy of Ocular Surface Disorders

Plos One,2015 May 8; 10(5): e0125035
- 13.** Malhotra C., Jain A.K.

Human Amniotic Membrane Transplantation: Different modalities of its use in ophthalmology

World J Transplant 2014 June 24; 4(2): 111-121
- 14.** Meller D., Pauklin M., Thomasen H., Westekemper H., Steuhl K.

Amniotic Membrane Transplantation in the Human Eye

Dtsch Arztebl. Int 2011; 108(14): 243-8

- 15.** Prabhasawat P., Barton K., Burkett G., Tseng S.C.

Comparison of conjunctival autograft, amniotic membrane grafts, and primary closure for pterygium excision

Ophthalmology, 1997; 104(6): 974-85

- 16.** Prabhasawat P., Tesavibul N., Komolsuradej W.

Single and multilayer amniotic membrane transplantation for persistent epithelial defect with and without stromal thinning and perforation

Br.J. Ophthalmol. 2001; 85: 1455-1463

- 17.** Rahman I., Said D.J., Maharajan V.S., Dua H.S.

Amniotic Membrane in Ophthalmology: indications and limitations

Eye (2009) 23; 1954-1961

- 18.** Sangwan V., Burman S., Tejwani S., Mahesh S., Murthy R.

Amniotic Membrane Transplantation: A review of current indications in the management of ophthalmic disorders

Indian J Ophthalmol. 2007; 55: 251-60

- 19.** Shimazaki J., Shinozaki N., Tsubota K.

Transplantation of amniotic membrane and limbal autograft for patients with recurrent pterygium associated with symblepharon

Br.J. Ophthalmol. 1998; 82: 235-40

- 20.** Solomon A., Pires R.T., Tseng S.C.

Amniotic membrane transplantation for partial limbal stem cell deficiency

Br.J. Ophthalmol. 2001 May; 85(5): 567-75

- 21.** Tseng S., Espana E., Kawakita T., Pascuale A., Li W., He W.,

Liv T.S., Chao T.E., Gao Y.Y., Yeh L.K., Liu C.H.

How does amniotic membrane work?

Ocul. Surf. 2004 Jul; 2(3):177-87

22. Uhlig C., Frings C., Rohloff N., Aasman C., Schmitz R., Kiesel L., Eter N.,
Busse H., Alex A.

Long-term efficacy of glycerine –processed amniotic membrane transplantation
in patients with corneal ulcer

Acta Ophthalmol. 2015; 93: e481-e487

ANEXOS

“Oftalmologia” é a revista oficial da Sociedade Portuguesa de Oftalmologia (SPO) e publica de forma prioritária trabalhos de investigação básica e clínica, sob a forma de artigos de revisão, “guidelines”, artigos originais, casos clínicos relacionados com oftalmologia, bem como artigos que versem áreas de conhecimento fronteira com interesse para a prática oftalmológica.

PROCESSO EDITORIAL

1. Condições gerais – Os artigos devem ser preferencialmente redigidos em Português ou Inglês, sendo desejável que progressivamente sejam em Ing. Será dada sempre preferência de publicação aos artigos submetidos simultaneamente em Português e Inglês. Poderão ser publicados artigos numa outra língua (espanhol ou francês), sendo que estes tem de ser obrigatoriamente submetidos também em Inglês.

Os manuscritos depois de rececionados são encaminhados para o editor da revista, que fará uma primeira avaliação editorial com o fim de comprovar a sua adequação (no âmbito temático e de interesse para a revista) e o cumprimento dos requisitos de apresentação formal exigidos nas normas de publicação. Desta apreciação resulta a aceitação para revisão por pares ou a sua devolução ao autor para correção e nova submissão.

Os manuscritos devem ser submetidos em ficheiros de texto em formato Word (.DOC ou .DOCX), com texto seguido e sempre com o mesmo tipo de letra. Os textos devem ser formatados em letra “Arial”, tamanho 11 com espaçamento de 1,5 linhas. Os títulos e sub-títulos deverão estar assinalados a negrito e em tamanho 12. A primeira página (página de rosto) deve conter somente os elementos descritos adiante na rubrica “Organização do Artigo”.

Os documentos submetidos para publicação serão propriedade da revista Oftalmologia da SPO transferindo os seus autores o direito de propriedade (copyright) a partir do momento que são aceites para publicação. Não serão aceites artigos simultaneamente submetidos noutras publicações científicas.

Os trabalhos devem ser submetidos em formato electrónico, na plataforma da revista da SPO, acessível a partir do site da SPO : <http://www.spoftalmologia.pt> ou da plataforma da revista “Oftalmologia” no serviço de alojamento de revistas científicas do Repositório Científico de Acesso Aberto de Portugal (RCAAP): <https://revistas.rcaap.pt/index.php/oftalmologia> .

2.- Uma vez aprovado pelo editor o manuscrito será enviado para revisão por parte de dois ou mais revisores, de forma confidencial e anónima. Os autores receberão a informação da avaliação dos revisores através do editor, sendo-lhes solicitadas as correções oportunas e consequente re-submissão. A seleção dos revisores realiza-se através do conselho redatorial da revista, tendo em conta os méritos académicos, científicos e experiência profissional, em cada uma das subespecialidades oftalmológicas, incluindo investigadores nacionais ou internacionais. Cada artigo será obrigatoriamente revisto por um membro do conselho redatorial e por um revisor externo ao mesmo.

3. Política editorial – a decisão do editor, após consultados os revisores, para aceitação-rejeição de um trabalho submetido baseia-se nos seguintes fatores:

I. Originalidade: assunto e/ou método original, com informação valiosa e apresentação de resultados novos ou confirmação de resultados já anteriormente verificados.

II. **Atualidade e/ou novidade** – tema que está na agenda das reuniões ou comunicações científicas ou é novo.

III. **Relevância** – aplicabilidade dos resultados para a resolução de problemas concretos da prática oftalmológica.

IV. **Inovação e significância** – avanço do conhecimento científico, técnico e/ou prática clínica.

V. **Fiabilidade e validade científica** – boa qualidade metodológica evidenciada.

VI. **Apresentação** – boa redação e organização do texto (boa coerência lógica e apresentação do material).

SECÇÕES

1. **Editoriais e notas** - Os editoriais e notas editoriais serão ou encomendados pelo editor da revista a quem considere oportuno ou da sua responsabilidade.

2. **Cartas ao editor** - Esta secção pode incluir comentários sobre artigos previamente publicados ou comentários sobre outras matérias de interesse científico para oftalmologia. Esta correspondência estará sujeita ao processo de revisão pelos pares e será publicada na medida em que o espaço, as prioridades e interesse o permitam. Estas não devem ultrapassar as 500 palavras. As cartas ao editor que versem sobre artigos previamente publicados terão direito de resposta, preferencialmente no mesmo número.

3. **Artigos de revisão e “guidelines”** – O objetivo da secção é atualizar determinados temas de oftalmologia, discutir novos conceitos ou rever conceitos clássicos tendo em vista os novos avanços de diagnóstico e tratamento e a divulgação das boas práticas em oftalmologia. Serão solicitados pelo Editor / Conselho Redatorial a personalidades reconhecidas e ou grupos de trabalho. Para além das revisões por convite, os artigos de revisão podem ainda ser submetidos por autores com elevada experiência numa área de estudo da oftalmologia para serem submetidos ao processo editorial.

4. **Artigos originais** – Podem incluir-se tanto trabalhos experimentais como clínicos, sempre que se trate de trabalhos de investigação. Os trabalhos de investigação devem ser inéditos e não podem ter sido submetidos para publicação em outra revista estrangeira indexada. Incluem-se nesta rubrica os prémios atribuídos no âmbito da SPO.

5. **Comunicações curtas e casos clínicos** – Deverão ser manuscritos resumidos descrevendo inovações técnicas e tecnológicas, manobras cirúrgicas inovadoras, aspectos de outras áreas do conhecimento relacionados com a prática oftalmológica, bem como casos clínicos com informação de prática clínica relevante.

6. **Histórias da História da Oftalmologia Portuguesa** – Será uma rubrica curta realçando aspectos relacionados com personalidades ou acontecimentos da oftalmologia portuguesa.

7. **Flash-look**. Nesta rubrica agrupam-se artigos curtos de atualização em conceitos básicos da prática clínica de oftalmologia, como classificação, opções terapêuticas, manuais de procedimentos de determinadas patologias.

ORGANIZAÇÃO DO ARTIGO

Os artigos devem ser submetidos em formato bilingue (sendo que a segunda língua do manuscrito deve ser o Inglês), ou somente em Inglês.

1. Página do título/identificação – (página separada) Contendo título do artigo, nome (s) dos (s) autor (es), serviço (s) hospitalar (es) e departamentos ou organismos onde foi realizada a investigação, títulos académicos e/ou hospitalares dos autores. Nesta página deve ainda figurar o endereço postal completo para envio de correspondência e o endereço eletrónico do autor correspondente. Se o trabalho já tiver sido apresentado, indicar onde e em que data bem como a referência a prémio obtido. Os autores deverão manifestar a existência de conflito de interesse (nomeadamente comercial no produto, equipamento ou processo), certificar que o trabalho não foi publicado previamente e que cedem os direitos de autor à SPO.

2. Resumo – Em Português e em Inglês com o máximo 250 palavras. O resumo deve ser subdividido em: Objetivos, Material e Métodos, Resultados, Conclusões.

3. Palavras chave – Duas listas de cinco palavras chave, em Português e Inglês, que resumam e classifiquem os principais assuntos focados no texto :estas destinam-se a codificação no índice.

4. Texto – Recomenda-se que o texto tenha as seguintes secções separadas: Introdução, Material e Métodos, Resultados, Discussão; poderá ser necessário fazer adaptações a circunstâncias particulares, como no caso dos casos clínicos ou dos artigos de “flash look”. O autor deverá indicar no texto, em local apropriado, em numeração árabe e em “superscript”, as citações bibliográficas que fizer. É da exclusiva responsabilidade do autor a verificação da exatidão das referências bibliográficas e da sua colocação no texto.

5. Agradecimentos – Tanto a pessoas, como a entidades, quando tal for justificado.

6. Declaração de interesses financeiros

7. Bibliografia – De modo geral segue-se o sistema de Vancouver, com a diferença principal de que a lista das referencias bibliográficas deve ser alfabética e subsequentemente numerada. Se houver mais de uma referencia do mesmo autor, serão indicadas em primeiro lugar aquelas em que o autor aparece isolado e só depois aquelas em que há mais que um autor.

8. Quadros, tabelas e figuras – são enviados em formato eletrónico, em ficheiros separados do texto. Os quadros e tabelas podem ser feitos num processador de texto ou numa folha de calculo (em Excel). As figuras devem ser feitos formato editável tipo “TIF”, um ficheiro para cada imagem com qualidade de impressão (≥ 300 dpi). As figuras quadros e tabelas devem ser referenciadas no texto e deve ser indicado a zona do texto às quais ficarão adstritas após formatação do artigo.

9. Legendas das figuras. As figuras devem ser obrigatoriamente legendadas e as legendas enviadas nesta secção. Os quadros e tabelas não devem ter legendas.

10. Abreviaturas e símbolos – Só devem ser usadas abreviaturas de uso corrente. Se for imprescindível recorrer a abreviaturas menos usuais, na primeira vez em que o termo aparece no texto ele deve figurar por extenso, logo seguido pela abreviatura entre parêntesis.

Unidade de Investigação

Tomei conhecimento. Nada a opor.

2 de Novembro de 2016

A Coordenadora da Unidade de Investigação

(Prof.ª Doutora Ana Azevedo)

DIRECÇÃO CLÍNICA

Aprovado. Ao CA.

(Prof.ª Doutora Ana Azevedo)

AUTORIZADO

CONSELHO DE ADMINISTRAÇÃO (C.A.) REUNIAO DE

Presidente do Conselho de Administração

30 NOV 2016

Presidente do Conselho de Administração

Presidente do Conselho de Administração

Presidente do Conselho de Administração

Presidente do Conselho de Administração

Exmo. Senhor

**Presidente do Conselho de Administração do
Centro Hospitalar de S. João – EPE**

Assunto: Pedido de autorização para realização de estudo/projecto de investigação

Nome do Investigador Principal: Maria Beatriz Nunes Sampaio

Título do projecto de investigação: Aplicação da Membrana Amniótica em Oftalmologia

Pretendendo realizar no(s) Serviço(s) de
Oftalmologia do Centro Hospitalar de S. João – EPE
o estudo/projecto de investigação em epígrafe, solicito a V. Exa., na qualidade de
Investigador/Promotor, autorização para a sua efectivação.

Para o efeito, anexa toda a documentação referida no dossier da Comissão de Ética do Centro
Hospitalar de S. João respeitante a estudos/projectos de investigação, à qual endereçou pedido
de apreciação e parecer.

Com os melhores cumprimentos.

Porto, 20 / Agosto / 2016

O INVESTIGADOR/PROMOTOR

M. Beatriz Sampaio

Parecer da Comissão de Ética para a Saúde do
Centro Hospitalar de São João / Faculdade de Medicina da Universidade do Porto

Título do Projeto: Aplicação de membrana amniótica em Oftalmologia

Nome da Investigadora Principal: Maria Beatriz Nunes Sampaio, estudante a frequentar o Mestrado Integrado em Medicina da FMUP

Serviço onde decorre o Estudo: No Serviço de Oftalmologia. Apresentou declaração do Diretor de Serviço, Prof. Doutor Falcão Reis, e do elo de ligação, Dr. Luís Torrão, que é também o orientador.

Objetivos do Estudo:

Esta investigação tem como objetivo avaliar a aplicabilidade da Membrana Amniótica num contexto oftalmológico, através da colheita de dados dos registos clínicos num período de dois anos.

Insere-se no âmbito do Mestrado Integrado em Medicina da FMUP, sob orientação do Dr. Luís Torrão.

Conceção e Pertinência do estudo:

Estudo retrospectivo de procedimentos cirúrgicos relativos aos últimos dois anos, com base numa amostra de aproximadamente 30 doentes submetidos a transplante da membrana amniótica em contexto oftalmológico.

Para o efeito serão recolhidos do processo clínico dos pacientes dados relativos a eficácia terapêutica, complicações e segurança subjacentes ao método cirúrgico em questão. Adicionalmente será feita uma revisão bibliográfica sobre o tema.

Benefício/risco:

Não aplicável

Confidencialidade dos dados:

A cada participante será atribuído um código individual, de forma a ser respeitado o anonimato e a confidencialidade dos dados.

Respeito pela liberdade e autonomia do sujeito de ensaio:

Não aplicável

Curriculum da investigadora:

Adequado à investigação.

Data previsível da conclusão do estudo:

Dezembro de 2016

Conclusão: Face ao exposto a trás, proponho um parecer favorável à realização deste projecto de investigação.

Porto, 18 de outubro de 2016

A Relatora

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Raquel Ribeiro', with a stylized, cursive script.

Dra. Raquel Ribeiro

7. **SEGURO**

- a. *Este estudo/projecto de investigação prevê intervenção clínica que implique a existência de um seguro para os participantes?*

SIM ☐ (Se sim, junte, por favor, cópia da Apólice de Seguro respectiva)

NÃO ☒

NÃO APLICÁVEL ☐

8. **TERMO DE RESPONSABILIDADE**

Eu, Maria Beatriz Nunes Sampaio,
abaixo-assinado, na qualidade de Investigador Principal, declaro por minha honra que as informações prestadas neste questionário são verdadeiras. Mais declaro que, durante o estudo, serão respeitadas as recomendações constantes da Declaração de Helsínquia (com as emendas de Tóquio 1975, Veneza 1983, Hong-Kong 1989, Somerset West 1996 e Edimburgo 2000) e da Organização Mundial da Saúde, no que se refere à experimentação que envolve seres humanos. Aceito, também, a recomendação da CES de que o recrutamento para este estudo se fará junto de doentes que não tenham participado em outro estudo no decurso do actual internamento ou da mesma consulta.

Porto, 20 / Agosto / 2016

M. Beatriz Sampaio
O Investigador Principal

PARECER DA COMISSÃO DE ÉTICA PARA A SAÚDE DO CENTRO HOSPITALAR DE S. JOÃO/FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DO PORTO

emitido
na
reunião
plenária
da CES

de
18
10 outubro
2016 /
—

A Comissão de Ética para a Saúde
APROVA por unanimidade o parecer do
Relator, pelo que nada tem a opor à
realização deste projecto de investigação.

Prof. Doutor Filipe Almeida
Presidente da Comissão de Ética